






METHOD OF CORRECTION OF IMMUNE SYSTEM OF LIVING BODY**Publication number:** RU2167659 (C1)**Publication date:** 2001-05-27**Inventor(s):** ZHILOV V KH**Applicant(s):** NOJ MEDITSINY MEDIKOR; TS SOVREMEN
AOZT**Classification:****- international:** **A61K31/502; A61P37/02; A61K31/502;**
A61P37/00; (IPC1-7): A61K31/502;
A61P37/02**- European:** A61K31/502**Application number:** RU20000120330 20000802**Priority number(s):** RU20000120330 20000802**Also published as:** WO0209681 (A2) WO0209681 (A3) UA81744 (C2) EP1315497 (A2) AU7093401 (A)**Abstract of RU 2167659 (C1)**

medicine, veterinary science, immunology. SUBSTANCE: invention proposes administration of pharmacologically acceptable amino- derivatives of 2,3-dihydro-1,4-phthalazinedione in effective doses from 0.2 mcg to 1000 mg. EFFECT: broadened field of use of aminophthalazinedione compounds in broad range of effective doses. 2 cl, 10 tbl, 9 ex

Data supplied from the **esp@cenet** database — Worldwide



(19) RU (11) 2 167 659 (13) C1
(51) МПК⁷ A 61 K 31/502, A 61 P 37/02

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 2000120330/14, 02.08.2000
(24) Дата начала действия патента: 02.08.2000
(43) Дата публикации заявки: 27.05.2001
(46) Дата публикации: 27.05.2001
(56) Ссылки: RU 2113222, 1998. US 2654689, 1953.
(98) Адрес для переписки:
121374, Москва, ул.Алексеев Савридова, 15,
корп.3. ЗАО "Центр Современной Медицины
"Медикор"

(71) Заявитель:
Закрытое акционерное общество "Центр
современной медицины "Медикор"
(72) Изобретатель: Жиллов В.Х.
(73) Патентообладатель:
Закрытое акционерное общество "Центр
современной медицины "Медикор"

(54) СПОСОБ КОРРЕКЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ЖИВОГО ОРГАНИЗМА

(57) Реферат:
Изобретение относится к области
медицины и ветеринарии, в частности к
иммунологии, и касается способов коррекции
иммунной системы живого организма.
Сущность изобретения - введение
фармакологически приемлемых

аминопроизводных
2,3-дигидро-1,4-фталазиндиона в
эффективной дозе 0,2 мг - 1000 мг. Способ
обеспечивает расширение области
применения аминаофталазиндионовых
соединений в широком интервале
эффективных доз. 1 з.п. ф-лы. 10 табл.

RU 2 167 659 C1

RU 2 167 659 C1



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 167 659** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) Int. Cl.⁷ **A 61 K 31/502, A 61 P 37/02**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 2000120330/14, 02.08.2000

(24) Effective date for property rights: 02.08.2000

(43) Application published: 27.05.2001

(46) Date of publication: 27.05.2001

(98) Mail address:
121374, Moskva, ul.Alekseja Sviridova, 15,
korp.3, ZAO "Tsentr Sovremennoj Meditsiny
"Medikor"

(71) Applicant:
Zakrytoe aktsionernoe obshchestvo "Tsentr
sovremennoj meditsiny "Medikor"

(72) Inventor: Zhilov V.Kh.

(73) Proprietor:
Zakrytoe aktsionernoe obshchestvo "Tsentr
sovremennoj meditsiny "Medikor"

(54) **METHOD OF CORRECTION OF IMMUNE SYSTEM OF LIVING BODY**

(57) Abstract:
FIELD: medicine, veterinary science,
immunology. SUBSTANCE: invention proposes
administration of pharmacologically
acceptable amino- derivatives of

2,3-dihydro-1,4-phthalazinedione in
effective doses from 0.2 mcg to 1000 mg.
EFFECT: broadened field of use of
aminophthalazinedione compounds in broad
range of effective doses. 2 cl, 10 tbl, 9 ex

RU 2 167 659 C1

RU 2 167 659 C1

Изобретение относится к новой современной области медицины и ветеринарии - иммунологии и может быть применено для профилактики и лечения различных заболеваний, называемых иммунопатологией, в частности такие как токсикоинфекционные, онкологические, аллергические и другие.

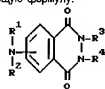
Известен широкий круг различных препаратов, обладающих иммуностимулирующей либо иммунодепрессивной активностью. В частности, к иммуностимулирующим препаратам относятся такие известные препараты как тактивин, декарис, дибазол и др., к иммунодепрессивным - меркаптопурин, циклофосфамид и др. Однако большинство известных препаратов обладает односторонним действием на иммунную систему.

Известно, что иммуномодулирующей активностью обладает 2-амино-1,2,3,4-тетрагидрофталазин-1,4-диона натрия соль дигидрат, которая вводится пациенту при слабой реакции клеточного иммунитета, например при наличии злокачественных новообразований, вызывая активацию макрофагов, интерлейкинов и других острофазных белков. Данный препарат применяется в диапазоне дозировок 10 - 1000 мг и вводится в виде инъекций, например, по 100 мг в 1 мл воды, либо перорально, например, по 1000 мг препарата в изотоническом растворе [РФ, патент N 2113222, A 61 K 31/04, 1988].

Настоящее изобретение представляет собой способ иммунокоррекции с применением широкой группы фармакологически приемлемых солей аминопроизводных 2,3-дигидро-1,4-фталазидина в эффективной дозе, составляющей 0,2 мг - 1000 мг.

Новое изобретение отличается от прототипа тем, что увеличивает число иммунокорректирующих аминопроизводных соединений и значительно расширяет их область применения как иммунодепрессантов, так и иммуностимуляторов в медицине и ветеринарии при использовании значительно более широкого, чем в прототипе интервале эффективных доз.

В качестве иммунокорректоров в настоящем изобретении используются известные фармакологически приемлемые химические соединения, применявшиеся ранее по другому назначению, например фунгициды [США, патент N 2654689, кл. 514-248, публ. 1953], имеющие следующую общую формулу:



где R₁, R₂, R₃, R₄ = H, алкил-, арил-, алкиларил-, атомы металлов, анионы.

К таким иммуноактивным соединениям данной группы, например, относятся:

- Li, K, Na, Ca, Ba, Mg, Ag соли 5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазидина;
- Li, K, Na, Ca, Ba, Mg, Ag соли

- 6-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазидина;
- 5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазидина гидрохлорид, сульфат, фосфат, цитрат, тартрат, фумарат, оксалат, малеат, ацетат, нитрат, гидробромид;

- 5 - соответствующие соли 6-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазидина;
- 5-метиламино-,

- 6-метиламино-2,3-дигидро-1,4-фталазидины и соответствующие им фармакологически приемлемые соли;

- 5,5-диметиламино-, 5,5-диэтиламино-, 5,5-дипропиламино-, 5,5-дибутиламино-, 5,5-дигексиламино-, 6,6-диэтиламино-, 6,6-дипропиламино-, 6,6-дибутиламино-,

- 15 6,6-дигексиламино-2,3-дигидро-1,4-фталазидины и соответствующие им фармакологически приемлемые соли;
- 5-фениламино-,

- 6-фениламино-2,3-дигидро-1,4-фталазидины и соответствующие им фармакологически приемлемые соли;

- 20 Эффективный интервал доз от 0,2 мг до 1000 мг подбирался экспериментальным путем. Выбор в конкретном случае той или иной эффективной дозы в указанном интервале зависит от характера заболевания, веса, возраста пациента (человека либо животного), что подтверждается

- 25 нижеприведенными примерами и таблицами. Иммунокорректоры могут вводиться в организм в виде инъекций, перорально либо в составе наружных средств.

- 30 Оценка иммуногенных и аллергенных свойств предлагаемых соединений проводилась в соответствии с методическими рекомендациями "Экспериментальное изучение иммунотропной активности фармакологических препаратов", Минздрава России [Р. М. Хайтов, И. С. Гушин, Б.В.Пинегин, А. И. Зебреев, Ж. Ведомости фармакологического комитета, 1999, N 1, с. 31-36].

- 35 В работе были использованы мыши различных линий в зависимости от применяемого метода исследования. Все мыши были получены из питомника "Столбовая" АМН РФ. При изучении образования антител и антипролиферирующих клеток использовали мышей линии СВА и С57BL₆ весом 16-18 грамм.

- 40 Действие соединений in vitro на пролиферацию лимфоидных клеток и индукцию интерлейкина-2 оценивали, используя мышей линии BalB/c, весом 16-18 г. Животные в контрольных и опытных группах были одного пола, одного веса. Каждая доза препарата испытывалась на 10 животных, всего было использовано более 800 мышей.

- 45 Оценку аллергизирующего действия препаратов проводили на морских свинках, свинках весом 250 - 300 г, полученных из Центрального питомника лабораторных животных АМН РФ. Всего использовано 70 морских свинок. Препараты вводили животным внутривенно и внутривенно.

- 50 Образование антител и антипролиферирующих клеток исследовали на модели бараньих эритроцитов, находящихся в растворе Олсера. Эритроциты получены из питомника института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П.Чумакова.
- 55 Изобретение иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1. Исследование влияния калцевиской соли 5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазинидона на неспецифическую резистентность организма.

Мышам линии C₅₇BL₆ вводили препарат интубирующе в дозах от 200 до 0,2 мг с десятикратным интервалом в 0,5 мл физиологического раствора за 2 часа до заражения мышей. Мышей заражали S/Typh в дозе 1·10⁶ микробных клеток, другую группу животных заражали E.Coli шт. 264 в дозе 1·10⁶ микробных клеток. Контролем служили мыши, зараженные той же дозой микробной культуры, но не получавшие препарата. Гибель мышей учитывали ежедневно в течение 10 дней.

В результате эксперимента было установлено, что влияние препарата на неспецифическую резистентность мышечной линии C₅₇BL₆ зависело от введения дозы и инфекционной модели.

При заражении мышей E.Coli препарат в дозе от 200 до 2 мг на мышь не влияет на резистентность организма мышей, и продолжительность жизни их была такой же, как и в контроле. (Таблица 1).

Таким образом, доза 0,2 мг обеспечивает достоверное (в 2,2 раза) увеличение продолжительности жизни экспериментальных животных при заражении E. Coli.

Пример 2. Исследование влияния калцевиской соли 5-амино-2,3-дигидроидона на фагоцитоз in vivo и in vitro.

Мышам линии C₅₇BL₆ вводили различные дозы препарата от 200 до 2 мг на мышь и через 24 часа их брали в опыт. Животным вводили интубирующе 3 мл 3%-ного раствора пептона и через 2 часа их умерщвляли с помощью хлороформа. Животных вскрывали в асептических условиях. Из брюшной полости отсасывали жидкость с помощью пастеровской пипетки, помещали ее в центрифужные пробирки и центрифугировали в течение 10 минут при 1000 об./мин. Осадок ресуспендировали в среде 199, подсчитывали число клеток в камере Горяева и доводили их до концентрации 2 млн/мл по нейтрофилам. К клеткам добавляли равный объем St. aureus шт. 1991 в соотношении 1:10 и инкубировали при 37°C в течение 30 минут. После инкубации делали мазки на предметном стекле, фиксировали в метаноле 20 минут и окрашивали краской Романовского-Гимза в течение 30 минут.

Для изучения фагоцитарной активности макрофагов животных брали в опыт на 3 сутки после введения пептона. Далее опыт проводили, как и в опыте с нейтрофилами. Учет результатов осуществляли под микроскопом при увеличении 90 раз. Подсчитывали фагоцитарный индекс и фагоцитарное число.

Результаты эксперимента показали, что препарат в дозе 200 мкг не оказывает стимулирующего действия на фагоцитирующие клетки, а в дозах 2 мкг и 20 мкг - достоверно усиливал поглотительную способность клеток.

Для оценки препарата на фагоцитоз in vitro брали кровь у донора из кубитальной вены в пробирку с гепарином из расчета 10 ЕД на 1 мл крови. К 2 мл крови приливали 0,8 мл 3%-ного раствора желатина, пригословленной

на среде 199. Инкубировали пробирки в термостате 20 минут при 37°C. Затем в центрифужную пробирку отсасывали надосадочный слой, содержащий клеточные элементы. Клетки 2 раза промывали средой 199 центрифугированием при 1000 об./мин. К осадку добавляли 1 мл среды 199, подсчитывали в камере Горяева нейтрофилы, затем готовили на среде 199 клеточную суспензию, содержащую 2 млн. нейтрофилов в 1 мл. Одновременно готовили взвесь St.aureus в концентрации 20 млн/мл. Стафилококковую взвесь предварительно опсонизировали равным объемом пудовой сыворотки человека в течение 20 мин в термостате при 37°C, затем центрифугировали и отмывали средой 199. К смеси нейтрофилов и стафилококов (в равных объемах) добавляли препарат в концентрациях 200, 20 и 2 мкг на 1 мл, в контрольные пробирки - среду 199. После инкубации в термостате 30 мин при 37°C пробирки центрифугировали и готовили препараты по описанной выше методике. Сравнивали в опыте и контроле фагоцитарный индекс и фагоцитарное число.

Полученные результаты представлены в Таблице 2. Полученные данные свидетельствуют о том, что препарат, введенный мышам в дозах от 200 до 2 мкг, оказывая стимулирующее действие на фагоцитарную активность макрофагов, а в дозе 200 мкг - не влияет на фагоцитарную функцию in vivo.

В опытах in vitro изученный препарат в дозах 20 и 2 мкг достоверно увеличивает поглотительную способность популяции нейтрофилов и практически не влияет на их переваривающую активность.

Пример 3. Исследование влияния нейтриской соли 5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазинидона на гуморальный иммунный ответ.

Мышей иммунизировали интубирующе отмытым физиологическим раствором эритроцитами барана в дозе 5·10⁶ клеток. Другие группы животных получали эритроциты барана и препарат в дозах от 200 до 0,2 мкг с десятикратным интервалом. При изучении продуктивной фазы гуморального иммунного ответа препарат вводили мышам на 5-е сутки после иммунизации их эритроцитами. Кровь у мышей забирали на 7, 14 и 21 день после иммунизации. Антитела определяли в реакции гемматютинации. Сыворотку крови мышей разводили двукратно в 96-луночных планшетах для иммунологических реакций с U-образным дном в объеме 25 мкл. В контрольную лунку вносили 25 мкл физиологического раствора. Во все лунки добавляли 25 мкл 1%-ного раствора эритроцитов барана. Планшеты инкубировали в термостате в течение 2-х часов при 37°C. За титр принимали последнее разведение исследуемой сыворотки, при которой еще наблюдается положительный результат. Контрольная лунка должна быть отрицательной.

При изучении влияния препарата на индуктивную фазу иммунного ответа его вводили одновременно с эритроцитами барана. Кровь у мышей забирали на 7, 14 и 21 сутки после иммунизации. Антитела определяли в реакции гемматютинации, как указано выше.

Результаты, полученные при совместном

введении эритроцитов барана (ЭБ) и препарата, представлены в Таблицах 3, 4. У животных низореагирующих линий $C_{57}BL_6$ наблюдается тенденция к увеличению титров гемматитинов на 21 день после введения до 0,2 и 20 мкг на мыш. Изучение влияния препарата на продуктивную фазу иммунного ответа мышей сводится к о супрессивном действии всех доз препарата на мышах высокореагирующих линий СВА и о тенденции роста гемматитинов на 21 день после введения препарата мышам низореагирующих линий $C_{57}BL_6$.

Таким образом, выявлена способность натриевой соли 5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазинидона изменять антигенообразование в зависимости от дозы и исходной иммунореактивности организма. При введении препарата в продуктивную фазу, т.е. на 5-й день после введения антигена (эритроцитов барана), он угнетает в широком диапазоне доз антигенообразование на 7-й и 14-й дни после иммунизации у мышей линии СВА, генетически высокочувствительных к эритроцитам барана. У низко чувствительных мышей линии $C_{57}BL_6$ препарат вызывает существенное повышение титров гемматитинов на 21 сутки эксперимента.

Пример 4. Исследование влияния натриевой соли 6-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазинидона на клеточный иммунный ответ.

Для оценки влияния препарата на клеточный иммунный ответ использовали реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Для сенсибилизации мышам подкожно вводили 1×10^7 эритроцитов барана в объеме 20 мкл. Препарат вводили одновременно с сенсибилизирующей и разрешающей дозой антигена в дозах от 0,2 до 2000 мкг с десятикратным интервалом. Разрешающую дозу 1×10^5 эритроцитов барана вводили на 5-й день после сенсибилизации под апоневротическую пластинку левой задней конечности. В контрольную (правую) лапу в качестве контроля вводили физиологический раствор в объеме 20 мкл. Учет интенсивности воспалительной реакции осуществляли через 24 часа после введения разрешающей дозы антигена. Для этого мышей забивали, сразу после этого обе лапки отрезали на уровне голеностопного сустава и взвешивали на торсионных весах. Индекс реакции (ИР) определяли по разнице массы опытной (О) и контрольной (К) лапок.

$$ИР = \frac{О - К}{К} \times 100\%.$$

Результаты исследования влияния препарата на клеточный иммунный ответ по реакции ГЗТ выявила тенденцию увеличения индекса реакции на мышках обеих линий по мере уменьшения дозы препарата (Таблица 5). Следует отметить, что увеличение индекса реакции особенно выражено у низореагирующей линии $C_{57}BL_6$ по мере уменьшения дозы препарата. При этом доза 200 мкг препарата приводила к подавлению ГЗТ у высокореагирующей линии СВА.

Таким образом, препарат в дозе 200 мкг у мышей линии СВА супрессировал развитие реакции ГЗТ. Остальные дозы препарата (20 - 2 мкг) не влияли на развитие ГЗТ у мышей обеих оппозитно реагирующих линий.

Пример 5. Исследование влияния гидрохлорида 5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазинидона на пролиферацию лимфоидных клеток.

Для постановки иммунологических реакций у животных забирали селезенку. Органы надрезали и гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе. Гомогенат фильтровали через фильтры из нержавеющей стали с отверстиями диаметром 50 - 100 мкм и затем трижды промывали в среде для центрифугирования (ЦЦ), состоящей из среды 199 с 5% эмбриональной телячьей сыворотки производства НИИЭМ им Н. Ф. Гамалеи АМН СССР, 1 мМ буферного раствора НEPES, 50 мг/мл гентамицина. Суспензии центрифугировали при 4°C, 1500 об/мин, на центрифуге К23 в течение 10 минут.

Количество клеток подсчитывали в камере Горяева, разводя суспензию 10 раз 3%-ной уксусной кислотой, подкрашенной метиленовым синим. Жизнеспособность клеток определяли с помощью 0,1% трипанового синего в физиологическом растворе.

Результаты исследования митогенного действия препарата, а также его воздействие на пролиферацию, вызванную Т-клеточным (Кона) и В-клеточным (ЛПС) митогенами, приведены в Таблице 6.

Как видно из представленных данных, препарат не обладает митогенными свойствами в исследованном диапазоне доз (от 50 мкг/мл до 12,5 мкг/мл). В то же время в более высоких концентрациях препарат угнетал как спонтанную пролиферацию клеток селезенки, так и пролиферацию, индуцированную неспецифическими митогенами (Кона и ЛПС).

Пример 6. Исследование влияния натриевой соли 5-метиламино-2,3-дигидро-1,4-фталазинидона на функциональную активность естественных киллеров.

Изучено влияние различных концентраций препарата на цитотоксическую активность естественных киллеров (финотипа CD3⁺, CD16⁺, CD56⁺) при использовании меченых клеток мышей миелобластной линии К-562, а также мононуклеарные клетки 10 здоровых доноров крови и 10 больных различной патологией с низкими и высокими уровнями цитотоксичности.

Для этого клетки линии К-562 в соотношении клеток/эффеорторы 1:25 (по 100 мкл меченых клеток и 100 мкл мононуклеаров). Исследования проводили в 96-луночных планшетах, в течение 16 - 24 часов инкубировали в CO₂-инкубаторе при 37 °C. Далее переносили содержимое лунок на фильтры, промывали, высушивали, помещали в раствор со сцинтилляционной жидкостью и определяли показатель на β-счете. Цитотоксический индекс вычисляли по формуле:

$$ЦИ = 1 - \frac{(A-B)}{(C-B)} \times 100\%.$$

А - радиоактивность клеток-мишеней в присутствии клеток-эффеорторов;

В - радиоактивность оставшихся после обработки клеток трибном Х-100 (максимальный выход);

С - радиоактивность клеток-мишеней в отсутствии клеток-эффеорторов.

Полученные результаты представлены в Таблицах 7,8:

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при нормальном уровне ЦИ концентрации препарата (в диапазоне 2,5 - 300 мкг/мл) существенно не модифицируют цитотоксичность естественных киллеров.

Из Таблицы 8 следует, что при исходно высоком уровне ЦИ препарата в дозах 2,5 и 5,0 мкг/мл, достоверно подавляет цитотоксичность, а при исходно низких показателях достоверно стимулирует функциональную активность естественных киллеров, т.е. проявляет способность модулировать цитотоксичность в зависимости от ее исходного уровня.

Пример 7. Исследование анафилактической активности натриевой соли 5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазинидона.

Морским свинкам 3-х групп вводили исследуемый препарат по схеме: 1-я инъекция подкожно в количестве 0,1 мл различными дозами (1 мкг, 10 мкг, 100 мкг), 2-я инъекция через день внутримышечно в область бедра 0,1 мл препарата и еще через день третья инъекция в количестве 0,1 мл. На 21-й день проводилась разрывающая инъекция основного фармакологического действия при однократном использовании. Результаты приведены в Таблице 9.

Таким образом, анафилактическая активность изученного препарата выражена очень слабо и только в высоких дозах.

Кроме рассмотренных выше исследований, проводимых на животных, были проведены клинические исследования иммунокорректирующей активности аминопроизводных 2,3-дигидро-1,4-фталазинидона на примере натриевой соли 5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазинидона при лечении ряда заболеваний у людей, в частности как противовоспалительное иммунокорректирующее средство при лечении язвенных заболеваний.

Результаты клинических исследований прилитоисторированы примерами 6 - 9:

Пример 6. Больная К. 35 лет. Хронически рецидивирующая язва на передне-нижней стенке луковицы размерами около 1,5 см диаметром, глубиной около 0,5 см, на противоположной стенке - "цепляющаяся" язва 0,3 см диаметром. Сопутствующий катаральный бульбит. Полудомашний режим.

Лечение: Инъекция 100 мг натриевой соли 5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазинидона перилуцерально. Повторная инъекция препарата на 7-ой день. Прием препарата в суспензии альмагеля, с 7-го дня в маалоксе (в связи с запорами). Омепразол по схеме. С

7-го дня - Де-нол с трихополем.

Значительное ослабление болей на 2-ой день лечения, полное исчезновение болей на 7-ой день. Уменьшение размеров язвы на 1/3 и очищение дна язвенного дефекта на 7-ой день. Эпителизация язвы на верхней стенке и уменьшение явления бульбита на 7-ой день. На 15 день лечения - уменьшение размеров язвенного дефекта на 2/3. Полное рубцевание язвы на 21 день. В течение всего курса лечения большой было принято 1000 мг препарата.

Пример 9. Исследование эффективности калиевой соли

5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазинидона при лечении острых кишечных инфекций (ОКИ).

Эффективность препарата в отношении снижения тяжести проявления разных форм ОКИ оценивалась по предлагаемой программе исследования по 3-х бальной шкале. У 19 из 20 больных интоксикационный синдром исчез в течение 1 - 3-х дней болезни, что позволило оценить как "полное снижение" тяжести болезни, у одного больного как "незначительное снижение" в первые дни и "полное снижение" к 5 дню лечения.

По окончании исследования была проведена общая оценка клинической эффективности и безопасности препарата по 4-х бальной шкале, в зависимости от нозологических форм, результаты которой представлены в Таблице 10.

Таким образом, у всех 20 наблюдаемых больных с различными формами ОКИ препарат оказался эффективным средством лечения, причем у 90% (18 больных) препарат оказал "отличный" и "хороший" эффект.

Из вышеприведенных данных следует, что исследование иммунотропной активности аминопроизводных 2,3-дигидро-1,4-фталазинидонов выявили их дозозависимую иммунокорректирующую активность в интервале от 0,2 мкг до 1000 мг.

Формула изобретения:

1. Способ коррекции иммунной системы живого организма с использованием аминоксидифталазинидонов соединений, отличающийся тем, что в качестве иммунокорректоров применяют фармакологически приемлемые аминоксидифталазинидоны 2,3-дигидро-1,4-фталазинидона в эффективной дозе, составляющей 0,2 мкг - 1000 мг.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что в качестве иммунокорректоров применяют фармакологически приемлемые металлические соли аминоксидифталазинидонов 2,3-дигидро-1,4-фталазинидона.

Таблица I

Оценка влияния кальциевой соли 5-амино-2,3-дигидро1,4- фталазин диона на неспецифическую резистентность мышей, зараженных E.Coli

Доза препа- рата (мкг)	Число мышей	Гибель мышей (дни)							Средняя продол- жительность жизни
		1	2	3	4	5	6	7	
		Заражение E.Coli. шт. 264, доза 10 ⁸ микр. клеток							
200	10	10	-	-	-	-	-	-	1,0
20	10	10	-	-	-	-	-	-	1,0
2	10	10	-	-	-	-	-	-	1,0
0,2	10	4	-	6	-	-	-	-	2,2
Контр.	10	10							1,0

Таблица 2

Влияние различных доз кальцевой соли 5-амино-2,3-дигидро1,4- фталазин диона на фагоцитоз нейтрофилов in vitro.

Доза (мкг)	Опыт		Контроль	
	фагоцит.число	фагоцит. индекс	фагоцит.число	фагоцит. индекс
I	2	3	4	5
200	78	5,6	77	6,1
	85	4,7	86	5,1
	84	9,1	85	8,7
	71	6,4	72	7,2
	67	7,4	68	8,1
Средняя	$77 \pm 0,26$	$6,0 \pm 0,04$	$77,6 \pm 0$	$7,0 \pm 0,04$
20	80	3,9	76	4,2
	96	2,8	66	3,5
	88	4,6	82	6,6
	94	6,8	82	5,6

	84	13,2	83	5,0
	96	9,1	92	10,0
	86	16,3	74	5,5
	84	5,2	62	4,4
Средняя	89 [±] 1,25	7,8 [±] 0,04	77 [±] 0,35	5,6 [±] 1,1
	88	6,4	87	6,2
	92	4,5	80	7,3
	78	7,4	30	5,8
	84	6,4	80	5,5
	92	5,6	80	9,1
Средняя	86 [±] 0,32	6,0 [±] 0,16	71,4 [±] 0	6,8 [±] 0,02

Таблица 3

Титры гематтлитининов при совместном введении натриевой соли 5-амино-
-2,3-дигидро-1,4-фталазин диона и ЗБ.

Доза пре- парата (мкг)	Линия СВА			Линия C ₅₇ BL ₆		
	7 дней	14 дней	21 день	7 дней	14 дней	21 день
0,2	112 [±] 106	168 [±] 109	15 [±] 13	59 [±] 58	50 [±] 48	266 [±] 200
2	28 [±] 26	154 [±] 97	10 [±] 8	154 [±] 57	256 [±] 0	24 [±] 20
20	96 [±] 37	256 [±] 0	83 [±] 70	91 [±] 64	512 [±] 0	560 [±] 160
200	35 [±] 33	75 [±] 59	46 [±] 32	512 [±] 0	44 [±] 42	160 [±] 138
ЗБ	112 [±] 106	512 [±] 0	24 [±] 12	154 [±] 57	256 [±] 0	27 [±] 15
Контроль	0	4 [±] 0	0	0	4 [±] 0	0

Таблица 4

Титры гемагглютининов при введении препарата через 5 дней после иммунизации ЭБ.

Доза пре- парата (мкг)	Линия СВА			Линия С ₅₇ BL ₆		
	7 дней	14 дней	21 день	7 дней	14 дней	21 день
0,2	0	9 [±] 7	0	0	2 [±] 0	35 [±] 10
2	10 [±] 8	173 [±] 110	22 [±] 10	13 [±] 11	54 [±] 50	226 [±] 201
20	0	256 [±] 0	23 [±] 10	26 [±] 19	256 [±] 0	304 [±] 105
200	28 [±] 13	158 [±] 120	47 [±] 30	0	96 [±] 42	120 [±] 95
ЭБ	111 [±] 106	512 [±] 0	24 [±] 12	154 [±] 57	256 [±] 0	27 [±] 15
Контроль	0	4 [±] 0	0	0	4 [±] 0	0

Таблица 5

Влияние натриевой соли 6-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазин диона на реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ПТЗ) у мышей.

Доза препа- рата (мкг)	Индекс реакции	
	Линия СВА	Линия С ₅₇ BL ₆
2	11 [±] 8	19 [±] 9
20	10 [±] 5	16 [±] 9
200	2 [±] 1,5	15 [±] 6
Контроль	6 [±] 3,5	12 [±] 7

Таблица 6

Влияние гидрохлорида 5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазин диона на пролиферацию лимфоидных клеток.

Концентрация препарата	Митоген, добавленный в культуру клеток селезенки		
	-	Кона	ЛПС
-	3534 \pm 563	17896 \pm 2080	18874 \pm 355
50 мкг/мл	2576 \pm 237	11860 \pm 1566	13232 \pm 928
500 мкг/мл	1763 \pm 94	1323 \pm 192	3870 \pm 308
2,5 мг/мл	249 \pm 93	195 \pm 27	251 \pm 44
12,5 мг/мл	369 \pm 56	178 \pm 28	256 \pm 40

Таблица 7

Влияние различных концентраций натриевой соли 5-метиламино-2,3-дигидро-1,4-фталазин диона на цитотоксический индекс в зависимости от уровня ЦИ контроля.

Конц., препарата, мкг/мл	ЦИ, %.
Контроль	41,0 \pm 3,0
2,5	41,9 \pm 2,8
5,0	38,8 \pm 3,1
10,0	40,8 \pm 3,0
25,0	41,4 \pm 3,0
50,0	39,1 \pm 4,0
75,0	37,7 \pm 4,1
150,0	41,0 \pm 3,5
300,0	39,0 \pm 3,1

Таблица 8

Влияние низких концентраций натриевой соли 5-метиламино-2,3-дигидро-
-1,4-фталазин диона на цитотоксический индекс в зависимости от его
уровня в контроле.

Конц. препара- рата, мкг/мл	Уровень цитотоксического индекса % (М)		
	Средний	Высокий	Низкий
Контроль	41,0 \pm 0,8	64 \pm 0,8	20,7 \pm 1,0
2,5	41,9 \pm 0,9	57 \pm 0,7	34 \pm 1,3
5,0	38,8 \pm 0,34	54 \pm 0,8	30 \pm 1,2
Число наблюдений	10	10	10

Таблица 9

Выраженность анафилактического шока.

Сенсибилизация препаратом (мкг)	Разрешающая инъекция (мкг)	Кол-во животн.	Выраженность анафилактич. шока					Индекс Вейгла
			-	+	++	+++	++++	
100	100	10	5	1	1	-	-	0,3
10	100	10	7	2	-	-	-	0,2
1,0	100	10	10	-	-	-	-	

Таблица 10

Эффективность калиевой соли 5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазин диона при различных формах ОКИ.

Форма болезни	Всего больных	Эффект препарата			
		Отличный	Хороший	Удовл.	Без эфф.
Острая дизентерия	9	I	7	I	-
Сальмонеллез	3	I	2	-	-
Пищевая интоксикация	4	I	3	-	-
Острый гастроэнтерит	4	2	I	I	-
ВСЕГО:	20	5	13	2	-

RU 2167659 C1

RU 2167659 C1